

УДК 595.763.7 : 591.542 : 591.465

Н. П. Вагина

**ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ  
НА РАЗВИТИЕ ЯИЧНИКОВ У СРЕДНЕАЗИАТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ  
ХИЛОКОРУСА *CHILOCORUS BIPUSTULATUS* L.  
(COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)**

[N. P. VAGHINA. THE EFFECT OF PHOTOPERIODIC CONDITIONS  
UPON THE DEVELOPMENT OF OVARIES IN THE MIDDLE-ASIATIC  
POPULATION OF *CHILOCORUS BIPUSTULATUS* L.  
(COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)]

Исследования, проводимые в лаборатории экспериментальной энтомологии Зоологического института АН СССР, показали, что развитие *Chilocorus bipustulatus* L. контролируется фотопериодическими условиями, а также выявили, что разные географические популяции этого вида имеют свои особенности, связанные с наступлением и прекращением имагинальной диапаузы. Диапауза у этих жуков выражается в отсутствии оогенеза, накоплении резервов в жировом теле и в характерном поведении жуков, которые становятся малоподвижными, мало питаются и собираются в скопления.

Среднеазиатская популяция *Ch. bipustulatus* является типично полициклической, дающей в природе несколько поколений. Ей свойственна фотопериодическая реакция длиннодневного типа с порогом чувствительности между 14 и 15 часами. Имаго сохраняют фотопериодическую чувствительность в течение всей жизни, с чем связано явление обратимости фотопериодической реакции у этой популяции. Длинный день всегда вызывает активное развитие и яйцекладку, короткий день индуцирует диапаузу (Заславский и Богданова, 1965).

У северных популяций характер реакции зависит от последовательности фотопериодических режимов в ходе развития особи. Короткий день индуцирует, как и у южных популяций, короткодневную диапаузу, которая снимается длинным днем. Длиннодневные условия, если они действуют на чувствительные стадии первыми, вызывают длиннодневную диапаузу, которая может быть снята лишь воздействием определенного количества коротких дней, после чего развитие в длинном дне приводит к нормальной яйцекладке (Заславский, 1970).

Поскольку основным проявлением имагинальной диапаузы у *Ch. bipustulatus* является прекращение оогенеза, изучение состояния яичников при активном развитии и диапаузе является необходимым для любых дальнейших попыток выяснения физиологических механизмов, контролирующего развитие нашего объекта.

В настоящей работе сообщаются гистологические наблюдения над развитием яичников *Ch. bipustulatus* из Средней Азии в разных фотопериодических условиях.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использовалась лабораторная культура *Ch. bipustulatus* из Душанбе. Самки ж самцы содержались вместе в стеклянных цилиндрах. Пищей для личинок и имаго служила ивовая щитовка (*Chionaspis salicis* L.). В части опытов все развитие жуков от яйца до конца опыта проводилось в заданном фотопериодическом режиме. 3 опыта со сменой фотопериодических условий развитие жуков от яйца до 30-го дня имагинальной жизни происходило в одном фотопериодическом режиме, а затем жуков помещали в иной режим.

Для гистологического изучения использовались цельные брюшки самок, которые фиксировались в жидкости Буэна с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной в 7 мк окрашивались гематоксилином Бемера с докраской эозином. Для реакции на присутствие ДНК и РНК материал фиксировался в жидкости Карнуа, и парафиновые срезы окрашивались метиловым зеленым пиронином по Унна.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Яичники *Ch. bipustulatus* лежат по обе стороны кишечника; каждый яичник состоит из 10 телотрофических овариол. Каждая овариола одета оболочкой и у активно развивающегося жука состоит из терминального филамента (соединительнотканного тяжа, выполняющего функцию поддержки овариолы), гермария, заключающего в себе питательные клетки, префолликулярную ткань и молодые ооциты, вителлярия, где происходит созревание ооцита до зрелого яйца. Каждая овариола заканчивается ножкой, которая ведет в латеральный яйцевод. Два латеральных яйцевода соединяются в медиальный.

**Активное развитие.** а) Развитие при постоянных условиях: длинный день (20 час, 26°).

Все развитие яичников у *Ch. bipustulatus* можно условно разделить на стадии.

**Стадия 1.** Жуки отрождаются с яичниками, у которых развит лишь один отдел — гермарий. Вершину и середину его занимают клетки одного типа, имеющие четкие границы. Ядра этих клеток дают положительную реакцию на ДНК, хроматин распределен в них в виде нитей. Митозы в этих клетках отмечены не были. В нижней части гермария располагается префолликулярная ткань, которая отличается тем, что клетки ее очень мелкие и образуют синцитий (рис. 1).

**Стадия 2.** На 3-й день после выхода имаго из куколки происходит дифференциация клеток гермария. Можно выделить трофоциты, занимающие вершину и середину гермария. Они имеют четкие клеточные границы, большое круглое ядро, хроматин образует компактные массы по периферии ядра. Между трофоцитами в небольшом количестве имеются промежуточные клетки с мелкими овальными ядрами и плохо различимыми границами цитоплазмы. Кроме них, в гермарий, в области, примыкающей к префолликулярной ткани, обособляются клетки с очень плотным базофильным ядром, совершенно бесцветной сферой вокруг него и очень слабо окрашенной цитоплазмой. Что представляют собой эти клетки, нам высказать не удалось. Подобные клетки отмечались в гермарий у *Tenebrio molitor* L. (Schlottman a. Vohag, 1956), где их функция также не была установлена. Указанные клетки существуют у *Ch. bipustulatus*, в течение всего цикла развития не изменяясь. Наконец, в это же время в префолликулярной ткани появляются молодые ооциты (рис. 2). Они постепенно увеличиваются в размерах и продвигаются к вителлярью. Молодые ооциты имеют гомогенную цитоплазму, богатую РНК, и круглое ядро, расположенное в центре ооцита, которое дает положительную реакцию на ДНК. Перинуклеарная зона отсутствует.

**Стадия 3.** На 4-е сутки ооциты переходят в вителлярый. Их размеры увеличиваются, но на этой стадии фолликулы по ширине остаются меньше ширины гермария. Цитоплазма ооцитов становится менее базофильной, чем на предыдущей стадии. Префолликулярная ткань, дифференцируясь, образует вокруг молодого ооцита однослойный фолликулярный эпителий, клетки которого столбчатые и плотно прилегают друг к другу (рис. 3, А). В этот период в фолликулярном эпителии наблюдается боль-

шое количество митозов. Цитоплазма клеток фолликулярного эпителия сильно базофильна. Гермарий увеличивается в размерах благодаря увеличению объема его клеток. В середине гермария клетки его крупнее, чем на вершине и в основании его. На этой стадии в вителляррии обычно находится 1—2 фолликула.

Надо отметить, что, хотя большинство авторов относит овариолы жесткокрылых *Polyphaga* к телотрофическому типу, который наиболее четко выражен у отряда полужесткокрылых (*Hemiptera*), имеется много данных, говорящих о том, что у *Polyphaga* мы встречаемся с модификацией телотрофического типа овариол. В первую очередь речь идет о питательных

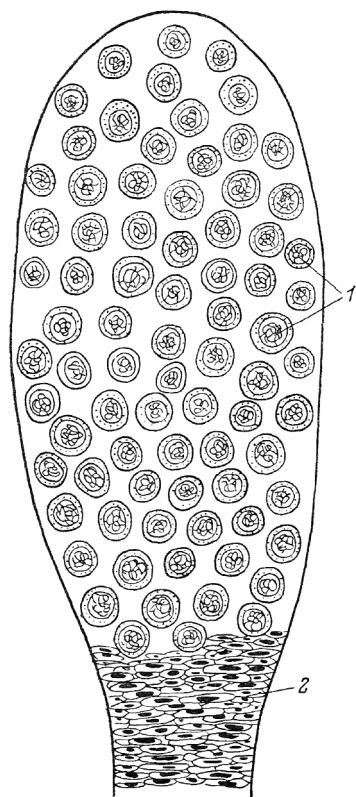


Рис. 1. Овариола только что отродившейся самки *Ch. bipustulatus*.

1 — клетки гермария; 2 — префолликулярная ткань.

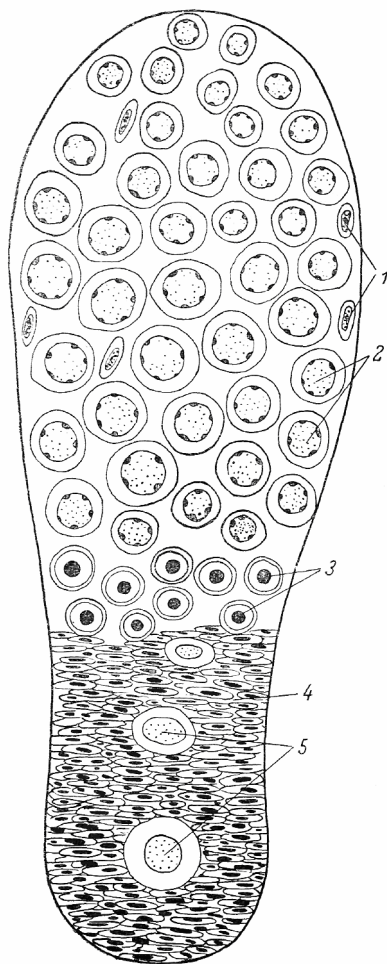


Рис. 2. Гермарий трехдневной самки *Ch. bipustulatus*.

1 — промежуточные клетки; 2 — трофодциты; 3 — клетки в основании гермария; 4 — префолликулярная ткань; 5 — молодые ооциты.

тяжах, которые связывают растущий ооцит с трофодцитами гермария. Так, они хорошо развиты и видны на гистологических препаратах у *Oncopeltus fasciatus* Dall. (Bonhag a. Wick, 1953; Bonhag, 1955a, b), который принадлежит к отряду *Hemiptera*. Гораздо труднее их было выявить у *Tenebrio molitor* L. (Schlottman a. Bonhag, 1956; Aggarwal, 1968) и у *Conotrachelus nenuphar* Hbst. (Smith a. Salkeld, 1964). У целого ряда видов, таких как *Popilius disjunctus* Illiger (Bryan, 1954), *Steraspis speciosa* Klug (Martoja, 1964), *Callosobruchus analis* Fabr. (Aggarwal, 1967) и *Hydrophilus olivaceus* Fabr. (Gundevia a. Ramamurty, 1972), авторы вообще отрицают их наличие. У колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say питательные тяжи тоже не были обнаружены, и авторы предлагают называть яичники такого типа псевдотелотрофическими (de Loof и др., 1972).

Что касается вопроса о том, каким образом трофоциты поставляют питательные вещества в ооцит, то можно предположить, что продукты трофоцитов распадаются на низкомолекулярные субстанции и в таком виде транспортируются к ооциту путем диффузии, точно так же, как частицы ДНК гермария в телотрофических овариолах *Oncopeltus fasciatus* проходят в ооцит в деполимеризованном состоянии (Bonhag, 1955a).

Второе отличие овариол *Polyphaga* от истинно телотрофических состоит в том, что в апикальной зоне гермария отсутствуют митозы, что говорит о том, что дифференцировка клеток гермария на трофоциты, ооциты и префолликулярную ткань происходит на стадиях, предшествующих имаги-

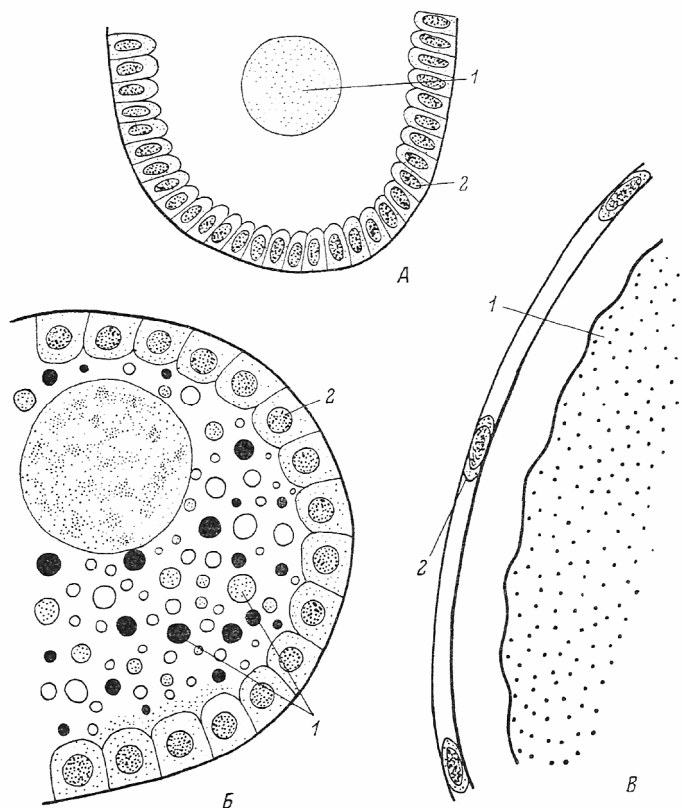


Рис. 3. Ооциты *Ch. bipustulatus* на разных стадиях созревания.

*А* — молодой ооцит вителлярия: 1 — ядро ооцита, 2 — столбчатый фолликулярный эпителий; *Б* — ооцит на стадии желткообразования: 1 — гранулы желтка, 2 — кубоидный фолликулярный эпителий; *В* — зрелое яйцо: 1 — хорион, 2 — плоский фолликулярный эпителий.

нальной. *Ch. bipustulatus* продолжает список видов, имеющих видоизмененные телотрофические овариолы, так как питательных тяжей нам выявить не удалось и, как отмечалось выше, митозы в апикальной части гермария замечены не были.

**Стадия 4.** Это стадия «большого роста» ооцитов. Начало этой стадии отмечено появлением гранул желтка в периферической зоне ооплазмы. Первые гранулы появляются на 5—6-й день развития жуков в указанных условиях. Ооцит быстро увеличивается в размерах. Гранулы желтка становятся крупнее и многочисленней. Около ядра обособляется перинуклеарная зона. На этой стадии цитоплазма ооцита не дает положительной реакции на РНК, ядро ооцита дает отрицательную реакцию на присутствие ДНК. Это явление, конечно, связано не с исчезновением РНК и ДНК, а с распределением их неизменного количества в увеличенном объеме ядра и цитоплазмы растущего ооцита (Bryan, 1954). К концу этой стадии ядро

смещается к краю ооцита и его содержимое растворяется. Но по мере того, как ооциты увеличиваются в размерах, увеличивается давление на клетки фолликулярного эпителия. Это давление снимается превращением столбчатого эпителия в кубоидный.

Фолликулярные клетки принимают участие в образовании желтка. На срезах отчетливо видно, что некоторые клетки образуют цитоплазматические впячивания в ооплазму. Эти впячивания заполнены четко различными частицами (рис. 3, Б). Возможность перехода веществ в ооцит путем пиноцитоза была показана на *Periplaneta americana* L. (Anderson, 1964), *Tenebrio molitor* (Aggarwal, 1968). Применение электронного микроскопа позволило установить, что действительно желточные гранулы формируются в кортикальной зоне ооплазмы путем микропиноцитоза (King a. Koch, 1963; King a. Aggarwal, 1965).

Образование желтка на этой стадии продолжается до тех пор, пока ооциты не достигнут своего окончательного размера.

С началом вителлогенеза испытывают изменения и трофоциты гермария. Они увеличиваются в размерах, хроматин распределяется по ядру равномерно.

**Стадия 5.** На этой стадии фолликулярными клетками образуется хорион, а сами клетки становятся плоскими (рис. 3, В). Надо отметить, что на всех стадиях развития клетки фолликулярного эпителия одноядерны.

Зрелые яйца откладываются активными самками при указанных условиях через 7—10 дней после отрождения. После овуляции фолликулярный эпителий пустого фолликула сжимается, образуя остаточное тело. Синцитиальная масса остаточного тела содержит сильно базофильные ядра, эозинофильную цитоплазму и большое количество вакуолей. С течением времени остаточное тело еще больше сжимается, образуя компактное тельце желтого цвета, лежащее в основании овариолы. Образование остаточного тела у *Ch. bipustulatus* сходно с этим процессом у *Coccinella septempunctata* L. (Singh a. Nayar, 1961) и у *Epilachna vigintioctopunctata* Fabr. (Kulshrestha, 1969).

б) При перенесении диапаузирующих жуков из короткодневных условий (10 час, 20°) в длиннодневные (20 час, 26°) развитие ооцитов начинается с третьей стадии и проходит все последующие стадии развития так же, как это было описано выше. На 10-й день пребывания в длиннодневном фотопериодическом режиме появляются первые кладки.

**Диапауза.** В день выхода имаго, все предыдущее развитие которых проходило в короткодневном режиме (10 час, 20°), яичники самок ничем не отличаются от яичников самок, отродившихся в длиннодневных условиях. Точно так же происходит дифференциация клеток гермария, и на 3-й день в префолликулярной ткани появляются молодые ооциты. Затем они переходят в вителлярный, но на этом развитие их заканчивается. Таким образом, при диапаузе развитие останавливается на 3-й стадии, и у самок в вителлярный находится обычно 1—2 фолликула, в которых никогда не начинается образование желтка.

Интересно отметить, что в некоторых овариолах иногда наблюдалось образование ооцитов, больших по величине, чем обычно при диапаузе. Эти ооциты со временем подвергаются резорбции. Резорбция эта весьма характерна и начинается с дегенеративных изменений в ядре, которые выражаются в появлении глыбок хроматина в ядре, в то время как в нормальных ооцитах хроматин ядра представлен нежной сетью. Фолликулярный эпителий вначале остается по внешнему виду нормальным, затем он дезорганизуется, внутри ооцита образуются скопления хроматина, появляется большое количество вакуолей, ооцит сморщивается и резорбируется. Надо указать, что такой процесс резорбции у диапаузирующих жуков встречается редко.

**Вторичная диапауза.** Как было показано (Заславский и Богданова, 1965), жуки *Ch. bipustulatus* активно развивающиеся и размножающиеся в длинном дне, будучи перенесены в условия короткого дня, прекращают откладывать яйца и впадают в диапаузу. Эта вторичная

диапауза, как показали наши наблюдения, представляет собой возврат к 3-й стадии развития яичников. Вначале самки в новых фотопериодических условиях продолжают нормальную яйцекладку. Но у некоторых из них уже на 7-й день начиналась резорбция ооцитов, находящихся на стадии образования желтка. Но в основной массе самки в это время имели еще нормально развитые яичники и продолжали откладывать яйца. На 10-й день резорбируемых ооцитов становится гораздо больше. Резорбция ооцитов на стадии образования желтка начинается с активного внедрения фолликулярных клеток в цитоплазму ооцита. Действуя как лецитолитические клетки, они захватывают желточные гранулы, образуются огромные пикнотические ядра, большое количество вакуолей. Последние стадии резорбции ооцитов, находившихся на стадии желткообразования, весьма схожи с образованием остаточного тела после овуляции. Резорбционные процессы заканчиваются к 20-му дню пребывания жуков в короткодневных условиях. К этому времени яичники сильно уменьшаются в размерах, в вителлярии остается 1—2 фолликула. Иногда в самых крупных из них наблюдается резорбция, описанная выше у диапаузирующих жуков. На 35-й день все самки имеют такие же яичники, как и при первичной диапаузе. Жуков, находящихся во вторичной диапаузе, можно отличить по присутствию в основании их овариол остаточных тел, образовавшихся после овуляции.

Диапауза при коротком дне и высокой температуре (10 час, 26°). В этих условиях самки испытывают одновременно два противоположных воздействия: короткий день индуцирует диапаузу, высокая температура способствует развитию. Проведенные наблюдения показали, что эти два воздействия разделены во времени. Вначале преобладает активизирующее влияние температуры, и на 5-й день после отрождения у некоторых самок уже начинается процесс образования желтка в ооцитах, который может продолжаться до 20-го дня. Но процесс созревания сильно затянута и не заканчивается. Гистологическое исследование 20-дневных самок показало, что наряду с процессами созревания интенсивно идет процесс резорбции ооцитов, достигших стадии образования желтка. Через 35 дней пребывания в условиях короткого дня и высокой температуры все самки показывают прекращение развития яичников и приобретают вид диапаузирующих.

Таким образом, у *Ch. bipustulatus* фотопериодические условия определяют развитие яичников. Короткий день останавливает их развитие на ранних стадиях, а действуя после длинного дня, приводит развивающиеся яичники к тем же самым ранним стадиям. Резорбционные процессы очень распространены у насекомых с имагинальной диапаузой. Так, у *Epilachna vigintioctomaculata* Mots. (Morihisa, 1967) и у *Conotrachelus nenuphar* (Smith a. Salkeld, 1964) во время диапаузы происходит резорбция ооцитов, в которых еще не началась откладка желтка. Она начинается с изменения ядерного аппарата ооцита и схожа с таковой, описанной нами для *Ch. bipustulatus*. Резорбция ооцитов на стадии желткообразования была подробно изучена на *Schistocerca gregaria* Forsk. (Lusis, 1963).

## ВЫВОДЫ

Два альтернативных состояния самки — активное или диапауза четко характеризуются состоянием яичников. Для диапаузы характерно полное отсутствие вителлогенеза, т. е. яичники содержат только ооциты, не начавшие «большой рост» (3-я стадия). При активном состоянии яичники содержат ооциты во всех стадиях развития. Намеченная нами 3-я стадия разграничивает эти два процесса. На этой же стадии останавливается развитие яичников при коротком дне. При индукции вторичной диапаузы состояние овариол возвращается тоже к 3-й стадии.

## ЛИТЕРАТУРА

- З а с л а в с к и й В. А. 1970. Географические расы *Chilocorus bipustulatus* L. (Coleoptera, Coccinellidae). I. Два типа фотопериодической реакции, контролирующей имагинальную диапаузу у северной расы. Зоол. журн., XLIX, 9: 1354—1365.
- З а с л а в с к и й В. А. и Т. П. Б о г д а н о в а . 1965. Особенности имагинальной диапаузы у двух видов *Chilocorus* (Coleoptera, Coccinellidae). Тр. ЗИН АН СССР, 36: 89—95.
- A g g a r w a l S. K. 1967. Morphological and histochemical studies on oogenesis in *Callosobruchus analis* Fabr. (Bruchidae, Coleoptera). Journ. Morph., 122, 1: 19—34.
- A g g a r w a l S. K. 1968. Pinocytosis during vitellogenesis in the mealworm *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae). Acta Ent. Bohemoslov., 65, 4: 272—275.
- A n d e r s o n E. 1964. Oocyte differentiation and vitellogenesis in the roach, *Periplaneta americana*. Journ. Cell. Biol., 20, 1: 131—135.
- B o n h a g P. F. 1955a. Histochemical studies of the ovarian nurse tissues and oocytes of the milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus*. Journ. Morph., 96, 3: 381—440.
- B o n h a g P. F. 1955b. Histochemical studies of the ovarian nurse tissues and oocytes of the milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas). II. Sudanophilia, phospholipids and cholesterol. Journ. Morph., 97, 2: 283—311.
- B o n h a g P. F. a. J. R. W i c k . 1953. The functional anatomy of the male and female reproductive system of the milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Dallas), (Heteroptera: Lygaeidae). Journ. Morph., 93, 2: 177—184.
- B r y a n J. K. 1954. Cytological and cytochemical studies of oogenesis of *Popilius disjunctus* Illiger (Coleoptera — Polyphaga). Biol. Bull., 107, 1: 64—79.
- G u n d e v i a H. S. a. P. S. R a m a m u r t y . 1972. A new type of ovariole in *Hydrophilus olivaceus* Fabr. (Hydrophilidae - Polyphaga, Coleoptera) — Its histology and histochemistry in relation to vitellogenesis. Zeitschr. mikrosk.-anat. Forsch., 85, 2: 176—186.
- K i n g R. S. a. E. A. K o c h . 1963. Studies on the ovarian follicle cells of *Drosophila*. Quart. Journ. Microsk. Sci., 104, 3: 297—320.
- K i n g R. S. a. S. K. A g g a r w a l . 1965. Oogenesis in *Hyalophora cecropia*. Growth, 29, 1: 17—83.
- K u l s h r e s t h a S. K. 1969. Observation on the ovulation and oviposition with reference to corpus luteum formation in *Epilachna vigintioctopunctata* Fabr. (Coccinellidae: Coleoptera). Zool. Anz., 182, 3/4: 276—285.
- L o o f A. d e , A. L a g a s s e a. W. B o h y n . 1972. Protein yolk formation in the Colorado beetle with special reference to the mechanism of selective uptake of haemolymph proteins. Proc. Kon. Nederland. Acad., 75, 2: 125—143.
- L u s i s O. 1963. The histology and histochemistry of development and resorption in the terminal oocytes of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. Quart. Journ. Microsk. Sci., 104, 1: 57—68.
- M a r t o j a R. 1964. Un type particulier d'appareil genital femelle ches les insectes: les ovarioles adenomorphes du Coleoptère, *Steraspis speciosa* (Heterogastra, Buprestidae). Bull. Soc. Zool. Fr., 89, 4: 614—641.
- M o r i h i s a K. 1967. Studies on oogenesis of the lady beetle: I. Anatomical and histological observation on the reversible development of ovary in the lady beetle, *Epilachna vigintioctomaculata* Motschulsky, induced by the change of photoperiods. Journ. Fac. Agric. Iwate Univ., 8, 3: 223—233.
- S c h l o t t m a n L. a. P. B o n h a g . 1956. Histology of the ovary of the adult mealworm *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae). Univ. Calif. (Berkeley) Publ. Ent., 11, 6: 351—393.
- S i n g h T. P. a. J. L. N a y a r . 1961. Some observation on the ovulation and corpus luteum formation in *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera). Agra Univ. Journ. Res., 10, 1: 99—103.
- S m i t h E. H. a. E. H. S a l k e l d . 1964. Ovary development and oviposition in the Plum curculio, *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera, Curculionidae). Ann. Ent. Soc. Am., 57, 6: 781—787.

Зоологический институт  
Академии наук СССР,  
Ленинград

---